

脐带血中的非血小板核糖核酸粒子对肺癌 A549 细胞的影响

张雪琳¹, 云升², 石秀换^{1*}

1. 内蒙古医科大学附属医院肿瘤内科, 呼和浩特 010030

2. 内蒙古医科大学附属医院干细胞实验室, 呼和浩特 010030

摘要 肺癌是最常见肺部恶性肿瘤, 居癌症相关死亡占比的首位。非血小板核糖核酸粒子 (NPRCP) 是一种新型再生粒子。通过观察不同浓度 NPRCP 对肺癌 A549 细胞的抑制率、细胞表面标志物及细胞周期的影响, 旨在明确 NPRCP 对肺癌细胞的影响。指标包括 NPRCP 与 A549 细胞共培养后的细胞抑制率、流式细胞仪检测 A549 细胞周期和表面标志物 CD133、CD44、CD24 及 ABCG2 的表达率。结果显示, NPRCP 对肺癌 A549 细胞存在抑制性的量-效和时-效关系, 随着 NPRCP 浓度的递增, A549 细胞上的 CD44 表达率显著降低。说明 NPRCP 可抑制肺癌 A549 细胞的增殖和 CD44 表达, NPRCP 可能通过下调肺癌 A549 细胞的 CD44 表达而发挥抑制肿瘤增殖、转移的作用。

关键词 非血小板核糖核酸粒子; 肺癌; A549 细胞; 细胞衰老; 抗衰老; CD44

肺癌起源于气管、支气管黏膜或腺体组织, 为肺部最常见的恶性肿瘤, 居癌症相关死亡占比的 22%, 排名第 1。肺癌与衰老的关系极为密切, 一方面, 细胞衰老分泌的促炎因子会促进肺癌的发生, 另一方面, 衰老也会导致免疫系统功能下降, 降低了对肺癌细胞的防御能力^[1]。肺癌严重威胁着中国

居民的健康, 据 2019 年国家卫生健康委员会发布的中国恶性肿瘤流行病学最新数据显示, 肺癌年发病人数为 78 万, 年死亡人数为 63 万, 已经成为中国发病率和病死率最高的恶性肿瘤。肺癌患者早期的临床表现并不明显, 往往在确诊时已进展至晚期^[2-3]。随着社会老龄化程度的加剧, 中国的肺癌

收稿日期: 2024-03-30; 修回日期: 2024-07-05

基金项目: 内蒙古医科大学科技百万联合项目 (YKD2018KJBW (LH) 032); 内蒙古医科大学研究生教育教学改革研究实践项目 (YJG20191013215); 内蒙古医科大学附属医院重点实验室开放基金项目 (2022NYFYSYS011)

作者简介: 张雪琳, 主治医师, 研究方向为肿瘤内科临床与分子机制, 电子信箱: zxl2769@163.com; 石秀换 (通信作者), 主任医师, 研究方向为肿瘤内科治疗与辅助治疗, 电子信箱: shixiuhuan2023@163.com

引用格式: 张雪琳, 云升, 石秀换. 脐带血中的非血小板核糖核酸粒子对肺癌 A549 细胞的影响[J]. 科技导报, 2024, 42(22): 23-29;

doi: 10.3981/j.issn.1000-7857.2024.06.00627

发病率和死亡率也呈现逐年上升趋势^[4-5]。据统计,肺癌的致死率高,患者5年生存率仅为16.1%^[4-5]。《“健康中国2030”规划纲要》中提出了到2030年为止总体癌症5年生存率提高15%的目标。针对肺癌的精准和个体化诊疗方案是现阶段关注的焦点。

非血小板核糖核酸粒子(non-platelet RNA-containing particles, NPRCP)是一种由小型干细胞释放的双层膜颗粒,内含有短RNA和microRNA,可表达八聚体结合转录因子4(octamer-binding transcription factor 4, OCT4)等与细胞增殖、迁移、分化有关的细胞因子^[6]。NPRCP亦被称为“再生粒子”,研究显示,NPRCP可以通过聚集、融合、组核等方式形成新的干细胞,这些新的干细胞可以进一步分化为各种组织特异性细胞,并参与组织细胞的更新^[6],具有创伤再生修复功能^[7]。NPRCP可能通过发挥抗衰老功能而抑制肺癌的发生和进展,有望成为肺癌治疗的新靶点之一。本研究通过观察不同浓度NPRCP对肺癌A549细胞的抑制率、细胞表面标志物及细胞周期的影响,旨在明确NPRCP对肺癌细胞活性的影响。

1 资料与方法

1.1 样本及来源

本研究经内蒙古医科大学附属医院医学伦理委员会审查、备案(第一附院发[2012]14号)。脐带血上清来自山东省脐带血造血干细胞库,人肺腺癌细胞株A549细胞由内蒙古医科大学附属医院干细胞研究中心提供。

1.2 细胞培养

NPRCP培养基制备:将胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)过滤后加入 α -MEM培养基中,FBS浓度为10%(体积分数)。

A549细胞培养基制备:将FBS过滤后加入含2.0 mmol/L谷氨酰胺的RPMI-1640培养基中,FBS浓度为10%(体积分数)。之后加入1%(质量体积分数)的青霉素链霉素双抗。培养基分装备用保存于4℃冰箱。

NPRCP分离和培养:使用生物安全柜,用含10%(体积分数)FBS的 α -MEM培养基进行NPRCP的悬起沉淀,之后接种于175T培养瓶中,补液至30 mL。NPRCP置于37℃、5%(体积分数)CO₂培养箱中培养。定期观察、适量补液。

A549细胞复苏、培养:A549细胞冻存于液氮罐中。室温缓化后置于37℃水浴箱里复苏。使用生物安全柜,将冻存管中的细胞液移至离心管中,加入预热至37℃的A549细胞培养液,400 g离心5 min,弃上清。培养基重悬A549细胞,接种至175T培养瓶中,补液至30 mL。A549细胞置于37℃、5% CO₂培养箱中培养。

A549细胞传代:当A549细胞密度达到约70%~80%(目测:细胞横截面积占培养皿面积的百分数)时进行传代培养。弃去培养液,磷酸盐缓冲盐水(phosphate buffered saline, PBS)冲洗2次。加入3 mL胰酶消化贴壁细胞,轻轻摇晃后置于培养箱中,消化3 min。显微镜下观察到A549细胞悬浮、形态变圆后,立刻向培养瓶中加入3 mL培养基终止消化。将5 mL预热至37℃的A549细胞培养液加入培养瓶中,用移液管从一侧有序地吹打培养瓶底部。将A549细胞混悬液从培养瓶移至15 mL离心管中,400 g离心5 min。弃上清,使用5 mL培养液重悬细胞后均匀接种至3个175T培养瓶中,置于37℃、5% CO₂培养箱中培养。

1.3 MTT比色法检测肺癌A549细胞抑制率

MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide)溶液的制备:使用生物安全柜,将250 mg MTT试剂溶于50 mL PBS中混匀,静置于4℃冰箱中24 h后,在避光条件下使用针头滤器将其过滤2遍,分装至1 mL/支的Eppendorf(EP)管中,置于-20℃冰箱中冻存。

A549细胞单细胞悬液的制备:使用血球计数板,将A549细胞的浓度调整为 1×10^5 个/mL,备用。将96孔板分为7组,每组设置6个平行复孔。第1组为空白组,第2组为对照组,第3~7组为实验组,分别命名为A、B、C、D、E组。空白组每孔加入200 μ L细胞培养基,对照组与A~E组每孔加入A549细胞悬液100 μ L。之后,A~E组每孔依次加入5、10、

20、40、80 μL 的 NPRCP 悬液 (2×10^6 个/ μL), 以及 95、90、80、60、20 μL 的细胞培养基。因此, A~E 组 NPRCP 的最终浓度分别为 0.5×10^5 、 1×10^5 、 2×10^5 、 4×10^5 、 8×10^5 个/ μL 。

3 个 96 孔板分别于培养 24、48、72 h 后终止培养。通过酶联免疫监测仪测定各孔细胞 490 nm 波长处的吸光度 (OD) 值, 计算细胞抑制率。细胞抑制率 = [(对照组 OD 值 - 实验组 OD 值) / (对照组 OD 值 - 空白组 OD 值)] $\times 100\%$ 。

1.4 流式细胞仪检测 A549 细胞周期和表面标志物

准备 6 孔板, 6 个孔依次编号为: 对照组、A、B、C、D、E 组。于每孔加入浓度为 1×10^5 个/mL 的 A549 细胞悬液 1 mL, 置于培养箱中培养 24 h。于对照组及 A、B、C、D、E 组中依次加入 0、50、100、200、400、800 μL 的 NPRCP 悬液 (2×10^9 个/mL), 以及 1000、950、900、800、600、200 μL 的培养基。因此, A~E 组 NPRCP 的最终浓度分别为 0.5×10^5 、 1×10^5 、 2×10^5 、 4×10^5 、 8×10^5 个/ μL 。共培养 48 h 后终止培养。胰酶消化、离心、PBS 洗涤。用 70% 乙醇固定 A549 细胞, 4°C 冰箱避光固定 18 h。碘化丙啶染色后, 用流式细胞仪测定各组位于不同细胞周期 (G1 期、S 期、G2 期、M 期) 的细胞个数, 计算增殖指数。增殖指数 (PI) = (S+G2/M) / (G0/G1+S+G2/M)。

不同浓度的 NPRCP 与 A549 细胞共培养 48 h 后, 检测各组 A549 细胞的表面标志物 CD133、CD44、CD24 及 ABCG2 的表达率。检测 A549 细胞表面标志物时, 对照组流式管中加入试剂 IgG1 20 μL , 实验组加入 FITC Anti-human CD44 20 μL 、APC Mouse Anti-Human CD338、PerCP Anti-human CD24、PE Mouse Anti-human CD133 各 5 μL 。 4°C 避光孵育 15 min 后使用流式细胞仪检测 A549 细胞表面标志物。

1.5 统计学处理

本研究的数据均为计量资料, 采用均数 \pm 标准差的模式进行统计描述, 采用单样本 K-S 拟合优度法进行正态性检验, 采用方差分析进行多组之间的比较, 采用 SNK (Student-Newman-Keuls) 检验来进行方差分析事后多重比较。采用 Spearman 相关分

析探讨不同时刻抑制率与浓度的相关性。以抑制率为因变量, 浓度为自变量进行线性回归分析。统计分析取双侧检验, 显著性检验水准取 $\alpha=0.05$ 。所有数据处理均采用 SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) 软件进行统计分析。

2 结果

2.1 不同浓度 NPRCP 对 A549 细胞生长的抑制作用

NPRCP 与 A549 细胞共培养 24、48、72 h 后, E 组的 OD 值显著低于对照组、A 组、B 组、C 组 (表 1), 细胞抑制率结果显示, 随着共培养时间延长或 NPRCP 的浓度增加, A549 细胞的生长抑制率显著增加 (图 1)。

表 1 不同浓度 NPRCP 与 A549 细胞共培养后在不同时间点的吸光度值

分组	24 h OD 值	48 h OD 值	72 h OD 值
空白组	0.31 \pm 0.08	0.32 \pm 0.05	0.26 \pm 0.04
对照组	2.10 \pm 0.12 ¹	2.23 \pm 0.11 ¹	2.07 \pm 0.06 ¹
A 组	2.08 \pm 0.10 ¹	2.22 \pm 0.15 ¹	2.05 \pm 0.13 ¹
B 组	2.06 \pm 0.14 ¹	2.17 \pm 0.19 ¹	1.93 \pm 0.25 ¹
C 组	2.03 \pm 0.16 ¹	2.11 \pm 0.26 ¹	1.86 \pm 0.23 ¹
D 组	1.99 \pm 0.13 ¹	2.00 \pm 0.15 ^{1,2,3}	1.82 \pm 0.32 ¹
E 组	1.87 \pm 0.18 ^{1,2,3,4,5}	1.98 \pm 0.20 ^{1,2,3}	1.77 \pm 0.35 ^{1,2,3}
F 值	145.311	96.981	47.149
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

注: ¹ 为与空白组相比, $P < 0.05$; ² 为与对照组相比, $P < 0.05$; ³ 为与 A 组相比, $P < 0.05$; ⁴ 为与 B 组相比, $P < 0.05$; ⁵ 为与 C 组相比, $P < 0.05$ 。

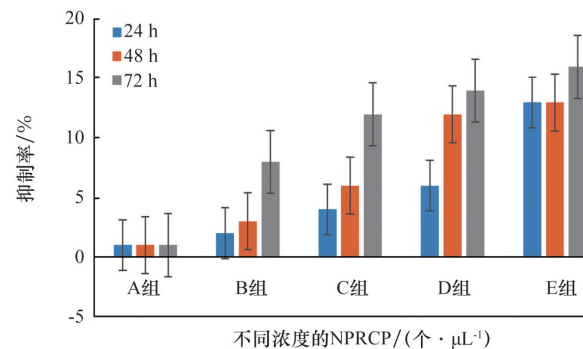


图 1 不同浓度 NPRCP 对 A549 细胞的抑制率

Spearman 相关分析结果显示,共培养 24 h($P=0.035$)、48 h($P=0.008$)、72 h($P=0.033$)后 NPRCP 浓度与抑制率呈正相关。线性回归分析显示,共培养 24 h($P=0.018$)、48 h($P=0.012$)、72 h($P=0.037$)后,随 NPRCP 浓度增高,对 A549 细胞抑制率逐渐增高。

2.2 NPRCP 对 A549 细胞周期的影响

细胞周期检测结果显示,不同浓度的 NPRCP 与 A549 细胞共培养 48 h 后,实验组(A~E 组)与对照组之间的差异比较均无统计学意义,且实验组之间的差异比较也无统计学意义(表 2),这表明不同浓度的 NPRCP 与 A549 共培养 48 h 后,NPRCP 对 A549 细胞周期分布无影响。

表 2 不同浓度 NPRCP 作用后 A549 细胞周期百分比(%)

分组	G0/G1	S	G2/M
对照组	64.78±2.32	29.76±2.41	5.47±0.4
A 组	65.82±1.61	28.92±0.52	6.45±0.22
B 组	66.11±2.13	27.98±2.07	5.91±0.85
C 组	63.84±0.47	30.78±0.81	5.7±0.99
D 组	67.25±1.21	27.88±0.41	5.87±1.02
E 组	65.39±3.72	28.44±3.17	6.17±1.51
F 值	0.877	1.081	0.413
P 值	0.525	0.419	0.831

细胞增殖指数(PI)结果显示,各组(对照组、A~E 组 PI 分别为 0.35±0.02、0.34±0.02、0.34±0.02、0.37±0.01、0.33±0.01、0.35±0.04)间差异比较无统计学意义($P=0.373$)。

2.3 NPRCP 对 A549 细胞表面标志物的影响

不同浓度的 NPRCP 与 A549 细胞共培养 48 h 后,检测各组 A549 细胞的表面标志物 CD133、CD24 及 ABCG2 的表达率,结果显示 CD133、CD24 及 ABCG2 的表达率在实验组和对照组、实验组之间的差异均无统计学意义,组间比较显示,随着 NPRCP 浓度的递增,C 组的 CD44 表达率显著低于 A、B 组,D 组的 CD44 表达率显著低于 A、B、C 组,F 组的 CD44 表达率显著低于 A、B、C、D 组(表 3)。

表 3 不同浓度 NPRCP 作用后 A549 细胞表面标志物表达率(%)

分组	CD133	CD44	CD24	ABCG2
对照组	10.12±2.16	99.06±0.09	10.29±2.78	15.26±4.23
A 组	10.10±3.47	99.05±0.21	9.88±3.85	14.89±4.46
B 组	10.48±2.83	99.09±0.04	8.92±2.73	15.12±5.08
C 组	10.32±2.89	95.95±0.06 ^{1,2,3}	9.13±3.26	15.39±2.79
D 组	10.53±2.47	92.11±0.04 ^{1,2,3,4}	10.12±3.01	13.34±2.98
E 组	10.64±2.90	89.98±0.06 ^{1,2,3,4,5}	9.28±2.86	14.81±5.33
F 值	0.018	47.149	0.100	0.093
P 值	0.772	<0.001	0.990	0.992

注:¹为与对照组相比, $P<0.05$;²为与 A 组相比, $P<0.05$;³为与 B 组相比, $P<0.05$;⁴为与 C 组相比, $P<0.05$;⁵为与 D 组相比, $P<0.05$ 。

3 讨论

再生医学、细胞免疫等新型治疗方式可明显延长肺癌患者的 5 年生存率,目前已成为学术界的研究热点之一。NPRCP 是一种新发现的小颗粒物,具有一定潜在的干细胞促分化能力^[6,8]。NPRCP 最早由美国斯坦福大学教授 Kong 在血液中发现,当时被称为血源性小点状细胞(blood-derived small dot cells)^[9]。后来经研究发现,它并非是一种小点状细胞,而是一种比细胞小的非血小板颗粒,因此被重新命名为 NPRCP^[6],中文名称为再生粒子。再生粒子的大小约为 1~5 μm ;不含有 DNA 成分,主要包含小于 250 个核苷酸的小 RNA;表达 Oct3/4、Nanog、Sox2、DDX4、E-cadherin、CD29、CD34、CD184 等蛋白。

本研究发现,NPRCP 对肺癌 A549 细胞起到抑制作用,二者共培养时,随着 NPRCP 浓度的增加,其对 A549 细胞生长的抑制率也显著增加,显微镜下可见部分 A549 细胞表现出细胞膜皱缩状态,部分细胞漂浮死亡。进一步的 Spearman 相关分析结果显示,共培养 24 h($P=0.035$)、48 h($P=0.008$)、72 h($P=0.033$)后,NPRCP 浓度与抑制率呈正相关,线性回归分析也提示共培养 24 h($P=0.018$)、48 h($P=0.012$)、72 h($P=0.037$)后,随 NPRCP 浓度增高,对 A549 细胞抑制率逐渐增高,这说明 NPRCP 对肺癌

A549 细胞存在抑制性的量-效和时-效关系。NPRCP 可以通过聚集、融合、组核的方式形成新的干细胞,这些新的干细胞可以进一步分化为各种组织特异性细胞,并参与组织细胞的更新^[6]。研究发现,NPRCP 与脐带血中的有核细胞共培养时会融合成小的、活跃的、无核的细胞,称为“颗粒融合衍生的无核细胞”(particle fusion-derived non-nucleated cells, PFDNC)^[6],PFDNC 的直径约为 8 μm ,可以很容易地进入和离开有核细胞,并最终分化为间质类干细胞。此外,由多个 NPRCP 聚集和融合而产生的较大的无核细胞结构可以进一步分化为大型干细胞并释放无核小细胞,其 OCT4 等与细胞增殖、分化相关的因子呈阳性^[6]。因此,NPRCP 具有修复的功能,被称为再生粒子。既往研究显示,NPRCP 可以促进缺血受损的小鼠肾脏组织再生^[8],可以减少伤口愈合中的疤痕形成^[9],具有一定的再生修复功能^[7]。本研究结果提示 NPRCP 可能通过发挥抗衰老、促进再生的功能而抑制肺癌的发生和进展。

本研究发现,不同浓度的 NPRCP 与 A549 细胞共培养 48 h 后,对 A549 细胞周期分布无显著影响,说明 NPRCP 对 A549 细胞的抑制作用可能不体现在影响癌细胞的分裂上。由此推测 NPRCP 可能不作用于细胞周期依赖性激酶(cyclin-dependent kinases, CDKs)和细胞周期蛋白(cyclins)等与癌症细胞的异常增殖相关的重要蛋白^[10-11]。但是,NPRCP 是否作用于 A549 细胞的 TP53(tumor protein p53, TP53)、B 细胞淋巴瘤 2(B-cell lymphoma 2, BCL-2)等参与癌细胞凋亡、增殖和生存的蛋白尚不确定,有待进一步研究验证^[12-14]。

与 NPRCP 共培养后,本研究对 A549 细胞表面标志物 CD133、CD44、CD24 和 ABCG2 的表达率进行了检测,结果显示,随着 NPRCP 浓度的递增,CD44 表达率显著降低。CD44 是白细胞黏附分子家族的跨膜蛋白多糖分子,广泛表达于细胞膜上。已被证实 CD44 参与肺癌的肿瘤侵袭及演进过程^[15],是肺癌治疗及预测的新型靶点^[16]。CD44 与衰老之间存在重要联系,有研究发现,在衰老的 HU-VEC 细胞中 CD44 的表达水平显著高于年轻 HU-

VEC 细胞^[17]。研究发现,CD44 与肿瘤患者的免疫系统的衰老和功能低下有关,Mellouk 等^[18]的研究发现在 CD8+T 细胞亚群中,随着细胞的老化,CD44 的表达增高,同时 CD44 高表达的恶性肿瘤细胞也更容易逃避人体的免疫系统,从而进行转移^[19-20]。本研究说明 NPRCP 具有抗肺癌细胞衰老的作用,可能通过下调肺癌 A549 细胞的 CD44 表达而发挥抑制肿瘤转移和进展的作用。

此外,本研究还发现 CD133、CD24 及 ABCG2 的表达率在实验组和对照组、实验组之间的差异均无统计学意义。CD133、CD24 和 ABCG2 是潜在的肺癌干细胞或癌症干细胞标志物,同时这些蛋白也常作为潜在的肺癌治疗靶点被广泛研究^[21-25]。本研究说明 NPRCP 并不影响肺癌 A549 细胞的干细胞分化潜能,可能并非通过影响 A549 细胞的细胞黏附、细胞间相互作用及耐药性而发挥抑制肺癌 A549 细胞的功能。

本研究具有一定局限性:(1) 本研究只在实验室中进行了体外细胞实验,没有进行体内实验,不能代表研究的因子在体内分子代谢中的过程。(2) 样本数量有限,研究中使用的肿瘤细胞系只有 A549,而且使用的样本数量较少,不能代表所有的肺癌细胞类型。此外,缺乏对其他非肺癌细胞类型的影响的评估。(3) 检测指标单一,只是评估了个别 A549 细胞表面标志物的表达率,未对其他细胞、分子和机制的影响做检测和评估。(4) 本研究只做了抑制率统计,暂时还不能判断该方法能否用于治疗肺癌,需要进一步研究来验证。

4 结论

随着老龄化时代的到来,肺癌等恶性肿瘤的发病率及生存率问题成为了社会关注的焦点。预计在 2024 年底,中国的肺癌患者会达到 500 万例^[26],以现有的肺癌死亡人数占比 18.4% 来计算,预计 2024 年底的肺癌死亡人数将达到或超过 92 万^[27]。

NPRCP 是新发现的一种再生粒子。本研究成功地从脐带血中分离出 NPRCP,结果显示 NPRCP 对肺癌 A549 细胞存在抑制性的量-效和时-效关

系, CD44 可能是 NPRCP 作用于 A549 细胞的潜在靶点, NPRCP 可能通过下调肺癌 A549 细胞的 CD44 表达而发挥抑制肿瘤转移和进展的作用。NPRCP 通过发挥抗衰老功能而抑制肺癌的发生和进展, 有望成为肺癌治疗的新靶点之一。

参考文献(References)

- [1] 杨小兵, 吴万垠. 炎症衰老与肺癌及中医药干预肺癌的进展[J]. 老年医学与保健, 2023, 29(6): 1124-1128.
- [2] Nasim F, Sabath B F, Eapen G A. Lung cancer[J]. The Medical Clinics of North America, 2019, 103(3): 463-473.
- [3] 韩群啸, 鲍国林, 刘义庆. 肺癌早期诊断研究进展[J]. 中国医药, 2023, 18(5): 761-764.
- [4] Mao Y S, Yang D, He J, et al. Epidemiology of lung cancer[J]. Surgical Oncology Clinics of North America, 2016, 25(3): 439-445.
- [5] 刘枫林, 马伟. 肺癌患者临床流行病学及病理学特点分析[J]. 中国病案, 2021, 22(5): 53-55.
- [6] Kong W Y, Nuo M, Zhu X P, et al. Pre-stem cell formation by non-platelet RNA-containing particle fusion[J]. Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology, 2013, 40(7): 412-421.
- [7] Kong W Y, Li S W, Lorenz H P. Germ plasm-like Dot cells maintain their wound regenerative function after in vitro expansion[J]. Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology, 2010, 37(4): e136-144.
- [8] Kong W Y, Nuo M, Zhu X P, et al. Kidney regeneration by non-platelet RNA-containing particle-derived cells [J]. Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology, 2013, 40(11): 724-734.
- [9] Kong W Y, Li S W, Longaker M T, et al. Blood-derived small Dot cells reduce scar in wound healing[J]. Experimental Cell Research, 2008, 314(7): 1529-1539.
- [10] Prince G M S H, Yang T Y, Lin H, et al. Mechanistic insight of cyclin-dependent kinase 5 in modulating lung cancer growth[J]. The Chinese Journal of Physiology, 2019, 62(6): 231-240.
- [11] Panagiotou E, Gomatou G, Trontzas I P, et al. Cyclin-dependent kinase (CDK) inhibitors in solid tumors: A review of clinical trials[J]. Clinical & Translational Oncology, 2022, 24(2): 161-192.
- [12] Zhao Z C, Wan J H, Guo M M, et al. Expression and prognostic significance of m6A-related genes in TP53-mutant non-small-cell lung cancer[J]. Journal of Clinical Laboratory Analysis, 2022, 36(1): e24118.
- [13] 李继先, 冯阿磊, 戴洪海, 等. EGFR、TP53 共突变的晚期非小细胞肺癌靶向治疗进展[J]. 中国肿瘤, 2022, 31(9): 753-758.
- [14] Ke W W, Zhao X X, Lu Z M. *Foeniculum vulgare* seed extract induces apoptosis in lung cancer cells partly through the down-regulation of Bcl-2[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2021, 135: 111213.
- [15] 陈奇, 贺伟光. 老年性肺癌患者肿瘤特异性标志物与 CT 影像学分型的相关性[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(12): 2899-2901.
- [16] 南洋, 李昕, 刘政甲. 老年肺癌患者癌组织 CD44 表达及对预后意义[J]. 中国实验诊断学, 2022, 26(4): 508-510.
- [17] Lowe D, Raj K. Premature aging induced by radiation exhibits pro-atherosclerotic effects mediated by epigenetic activation of CD44 expression[J]. Aging Cell, 2014, 13(5): 900-910.
- [18] Mellouk A, Bobé P. CD8+, but not CD4+ effector/memory T cells, express the CD44(high)CD45RB(high) phenotype with aging, which displays reduced expression levels of P2X(7) receptor and ATP-induced cellular responses[J]. FASEB Journal, 2019, 33(3): 3225-3236.
- [19] 解杨, 童鹿青, 易立, 等. 酸性肿瘤微环境对胶质瘤细胞侵袭 迁移能力的影响及其机制研究[J]. 中华神经医学杂志, 2019, 18(3): 217-224.
- [20] 刘罡, 毛重山. MiR-34a 靶向 CD44 对肺癌细胞干细胞表型的影响[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(10): 2477-2480.
- [21] Zheng Y, Wang L, Yin L M, et al. Lung cancer stem cell markers as therapeutic targets: An update on signaling pathways and therapies[J]. Frontiers in Oncology, 2022, 12: 873994.
- [22] Moro M, Fortunato O, Bertolini G, et al. MiR-486-5p targets CD133+ lung cancer stem cells through the p85/AKT pathway[J]. Pharmaceuticals, 2022, 15(3): 297.
- [23] Qiao X J, Gu Y, Du H, et al. Co-expression of CD24 and Hsp70 as a prognostic biomarker for lung cancer[J]. Neoplasia, 2021, 68(5): 1023-1032.
- [24] Thirusangu P, Ray U, Sarkar B S, et al. PFKFB3 regulates cancer stemness through the hippo pathway in small cell lung carcinoma[J]. Oncogene, 2022, 41(33): 4003-4017.
- [25] Li C C, Yang Q, Chen Z, et al. Noninvasive evaluation of multidrug resistance *via* imaging of ABCG2/BCRP

- multidrug transporter in lung cancer xenograft models[J]. *Molecular Pharmaceutics*, 2022, 19(10): 3521-3529.
- [26] 王学林, 刘逸翔. 老年肺癌患者血清 miR-200b 和 miR-141 表达及对预后的影响[J]. *广东医学*, 2019, 40(21): 3040-3044.
- [27] 郭娜, 周小果. 4 种肿瘤标志物联合血清铁蛋白早期诊断老年肺癌[J]. *中国老年学杂志*, 2019, 39(7): 1593-1595.

Effect of non-platelet RNA-containing particles in umbilical cord blood on lung cancer A549 cells

ZHANG Xuelin¹, YUN Sheng², SHI Xiuhuan^{1*}

1. Department of Oncology, the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010030, China

2. Stem Cell Laboratory, the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010030, China

Abstract Lung cancer is the most common lung malignancy and the leading cause of cancer-related death. Non platelet RNA-containing particles (NPRCP) are a new type of regenerative particles. The aim of the study is to clarify the effects of NPRCP on lung cancer cells by observing the influence of NPRCP at different concentrations on inhibition ratio, cell surface markers, and cell cycle of A549 cells. The indicators are the cell inhibition ration after co-culture of NPRCP and A549 cells, and the cell cycle of A549 and the expression rate of CD133, CD44, CD24 and ABCG2 detected by flow cytometry. The results show inhibitory dose-response and time-dependent effect of NPRCP on lung cancer A549 cells. As the concentration of NPRCP increased, the CD44 expression rate on A549 cells decreased significantly. It suggests that NPRCP can inhibit the proliferation and CD44 expression of lung cancer A549 cells, and NPRCP may inhibit tumor proliferation and metastasis by downregulating the CD44 expression of A549 cells.

Keywords non-platelet RNA-containing particles; lung cancer; A549 cells; cell aging; anti-aging; CD44 ●



(责任编辑 傅雪)